

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
27. September 2001 (27.09.2001)

PCT

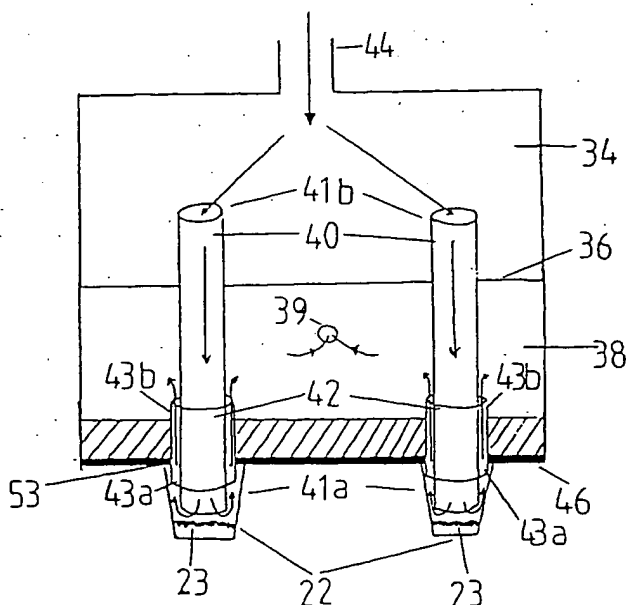
(10) Internationale Veröffentlichungsnnummer
WO 01/70927 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12M 1/14, 1/04 (72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): AUFDERHEIDE,
Michaela [DE/DE]; Bugstrasse 7, 30559 Hannover (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/03268
- (22) Internationales Anmeldedatum: 22. März 2001 (22.03.2001) (74) Anwälte: JACOBY, Georg usw.; Samson & Partner,
Widenmayerstrasse 5, 80538 München (DE).
- (25) Einreichungssprache: Deutsch (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU,
CZ, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR,
HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR,
LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ,
NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 100.14 057.2 22. März 2000 (22.03.2000) DE
- (71) Anmelder und
(72) Erfinder: MOHR, Ulrich [DE/DE]; Muthesiusweg 25, (84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ; UG, ZW),

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: DEVICE AND METHOD FOR THE TREATMENT OF A CULTURE PLACED IN A CULTURE FLASK WITH A
GASEOUS MEDIUM AND AN EXPOSURE DEVICE

(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG UND VERFAHREN ZUM BEAUFSCHLAGEN EINER IN EINEM KULTURGEFÄSS
AUFGENOMMENEN KULTUR MIT EINEM GASFÖRMIGEN MEDIUM SOWIE EXPOSITIONSVORRICHTUNG



(57) Abstract: The invention relates to a method and a device (28), for exposing a culture (22) placed in a culture flask to a gaseous medium. In order to achieve a distribution of the gaseous medium for treatment that is as homogeneous as possible over the surface of the culture, a directed stream of the gaseous medium is generated over essentially the entire surface of the culture (23). The invention further relates to an exposure device for treating a culture (23), placed in a culture flask (22), with a fluid medium, comprising the treatment device (28).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

Best Available Copy



eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren sowie eine Vorrichtung (28) zur Exposition einer in einem Kulturgefäß (22) aufgenommenen Kultur (23) mit einem gasförmigen Medium. Zum Erzielen einer möglichst homogenen Verteilung des zu beaufschlagenden gasförmigen Mediums auf der Kulturoberfläche wird eine gezielte Strömung des gasförmigen Mediums über im wesentlichen die gesamte Oberfläche der Kultur (23) erzeugt. Die Erfindung betrifft ferner eine Expositionsvorrichtung zum Versorgen einer in einem Kulturgefäß (22) aufgenommenen Kultur (23) mit einem flüssigen Medium, welche die Beaufschlagungsvorrichtung (28) aufweist.

5

10

Vorrichtung und Verfahren zum Beaufschlagen einer in
einem Kulturgefäß aufgenommenen Kultur mit einem
gasförmigen Medium sowie Expositionsvorrichtung

15

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren
zum Beaufschlagen einer in einem Kulturgefäß aufgenommenen
Kultur mit einem gasförmigen Medium sowie eine Expositions-
vorrichtung.

20

Aus dem Stand der Technik ist es bekannt, der in einem Kul-
turgefäß enthaltenen Kultur flüssige Nährmedien zuzuführen.
So ist insbesondere bekannt, ein bestimmtes flüssiges Nähr-
medium innerhalb des Kulturgefäßes durch ein anderes Nähr-
25 medium auszutauschen, einen bestimmten Flüssigkeitspegel
des flüssigen Nährmediums innerhalb des Kulturgefäßes ein-
zustellen und das Kulturgefäß zu entleeren. Ein Beispiel
für eines solches Kulturgefäß ist in der Druckschrift DE
196 19 114 A1 gezeigt.

30

So ist es weiterhin bekannt, die Kulturen innerhalb des
Kulturgefäßes mit einem gasförmigen Medium zu beaufschla-
gen, die Zellkulturen somit vorgegebenen schädigenden und
therapeutischen Bedingungen auszusetzen. Aus der DE 198 01
35 762 ist es weiterhin bekannt, neben der Behandlung von
Zellkulturen mit Gasen und/oder Aerosolen auch partikuläre
Wirkstoffe unmittelbar mit den Zellkulturen in Kontakt zu
bringen. Hierzu werden die zu untersuchenden Partikel auf
die Zellkulturen aufgestäubt und ggf. unter Senken und He-
40 ben des Nährflüssigkeitspegels innerhalb des Kulturgefäßes

von der Zellkultur abgehoben bzw. mit dieser in Kontakt gebracht.

5 All diesen bekannten Kulturgefäßen ist gemein, daß eine bestimmte gasförmige Atmosphäre oberhalb der in dem Kulturgefäß enthaltenen Kultur durch Zuführen der gewünschten Atmosphäre eingestellt werden kann. Dies geschieht entweder, indem das Kulturgefäß mit der Umgebungsluft kommuniziert, d.h. die Umgebungsluft über eine Eingangsöffnung in das
10 Kulturgefäß gelangen kann, oder indem über die Eingangsöffnung eine gewünschte Atmosphäre beispielsweise von einer unter leichtem Druck stehenden Vorratsflasche an die Kultur angelegt wird. Bei letzterer Methode strömt nach Öffnen des Druckventils in der Vorratsflasche aufgrund des anfänglichen Druckunterschiedes zwischen der Atmosphäre in der Vorratsflasche und der Atmosphäre in dem Kulturgefäß solange
15 etwas von der Atmosphäre aus der Vorratsflasche in das Kulturgefäß, bis sich ein statisches Druckgleichgewicht eingestellt hat. Danach gibt es keine weitere Strömung in das Kulturgefäß, erst recht nicht in Richtung der Kulturoberfläche. Der einzige Antrieb einer Bewegung der Partikel in dem gasförmigen Medien erfolgt dann über den Diffusionsmechanismus. Grundsätzlich wird in beiden Fällen also das gasförmige Medium statisch angelegt.

25 Der Nachteil dieser bekannten Methoden zum Beaufschlagen der Kultur mit einem gasförmigen Medium liegt darin, daß keine zeitlich und räumlich homogene Verteilung der Atmosphäre über die gesamte Zellkulturoberfläche bzw. bei mehreren in mehreren verschiedenen Kulturgefäßen aufgenommenen Zellkulturen über die mehreren Zellkulturoberflächen gewährleistet werden kann und damit beispielsweise die Ergebnisse der Versuche mit diesen Zellkulturen in Verbindung mit der Atmosphäre statistisch unerwünschten Schwankungen
30 ausgesetzt sind.

Insbesondere bei gasförmigen Medien, welche Partikel mit sich führen, läßt sich mit den bekannten Verfahren bzw. Vorrichtungen keine homogene Verteilung der Partikel auf

der Oberfläche der Zellkulturen erzielen, was zu ungenauen Meßergebnissen führen kann.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, die bekannten
5 Vorrichtungen und Verfahren zum Beaufschlagen einer in einem Kulturgefäß aufgenommenen Kultur mit einem gasförmigen Medium dahingehend weiterzuentwickeln, daß eine möglichst
homogene Verteilung des zu beaufschlagenden gasförmigen Mediums auf der Kulturoberfläche erzielt werden kann.

10 Die Erfindung löst diese Aufgabe jeweils mit den Gegenständen der Ansprüche 1 und 18.

Bevorzugte Ausführungsformen sind in den Unteransprüchen
15 beschrieben.

Bei der erfindungsgemäßen Vorrichtung zum Beaufschlagen (zur Exposition) einer in einem Kulturgefäß aufgenommenen Kultur mit (in) einem gasförmigen Medium ist diese zum Er-
20 zeugen einer gezielten Strömung des gasförmigen Mediums über im wesentlichen die gesamte Oberfläche der Kultur ausgestaltet. Bei dem entsprechenden erfindungsgemäßen Verfahren zum Beaufschlagen (zur Exposition) einer in einem Kulturgefäß aufgenommenen Kultur mit (in) einem gasförmigen
25 Medium wird eine gezielte Strömung des gasförmigen Mediums über im wesentlichen die gesamte Oberfläche der Kultur erzeugt. Unter einer gezielten Strömung wird insbesondere eine Art steuerbare Strömung verstanden, die zwangsgeführt und kontinuierlich (unterbrochen oder ununterbrochen) über
30 die Oberfläche strömt, und zwar derart, daß der Strömungsverlauf im vornherein nach bestimmten Kriterien optimiert ist, sei es in seiner zeitlichen oder räumlichen Homogenität. Mit einer Strömung lassen sich gegenüber dem aus dem Stand der Technik bekannten statischen Anlegen eines
35 gasförmigen Mediums die Verhältnisse des zu beaufschlagenden Mediums (Konzentrationen, Homogenitäten, etc.) oberhalb der Kultur sehr viel genauer einstellen.

Außerdem wird es erstmals möglich, auch allein die Außenat-
40 mosphäre (Außenluft) als gasförmiges Medium zufriedenstel-

lend über die Kulturoberfläche zu leiten. Bei der statischen Situation wurden beispielsweise die in die Außenluft abgegebenen Reaktionsprodukte der Kulturen nur unzureichend abtransportiert und konnten somit das Versuchsergebnis verfälschen. Mit dem Einstellen einer Strömung ist nunmehr vorteilhaft eine sehr viel größere Bandbreite an Simulationsmöglichkeiten gegeben, insbesondere hinsichtlich der Einstellung der Konzentration des gasförmigen Mediums oberhalb der Kultur.

10

Auch ist hiermit erstmals die problematische Behandlung der Kulturen mit Festpartikeln zufriedenstellend gelöst (siehe oben). Nunmehr können die Festpartikel in dem gasförmigen Medium mitgeführt werden und mit der Strömung über die Oberfläche geleitet werden. So kann beispielsweise die Belastung von Lungenzellen durch Partikeldurch Verändern der Strömung oberhalb der Lungenzellen untersucht werden.

15

Das gasförmige Medium kann erfindungsgemäß als reines Gas vorliegen, d.h. alle darin enthaltenen Stoffe (Atome, Moleküle, etc.) befinden sich in der Gasphase, und/oder es kann auch als Träger für Fest- und/oder Flüssigstoffe dienen. Insbesondere können so Aerosole, zerstäubte Flüssigkeiten, kleine Flüssigkeitströpfchen (z.B. Pflanzenschutzmittel als Sprühnebel; etc.), Schwebeteilchen, Feststoffpartikel (z.B. Holzstaub, etc.), gasförmige Suspensionen, zerstäubte Suspensionen oder Emulsionen als zu tragende Substanzen in dem Trägergas enthalten sein.

20

25

Bevorzugt umfaßt die Vorrichtung einen Eingang zum Einleiten des gasförmigen Mediums, einen Ausgang zum Ableiten des gasförmigen Mediums, wobei die Kultur in dem Kulturgefäß strömungstechnisch gesehen zwischen dem Eingang und dem Ausgang angeordnet ist, und ein Mittel zum kontinuierlichen Erzeugen einer Druckdifferenz zwischen dem Eingang und dem Ausgang.

30

Bevorzugt weist die Vorrichtung eine Strömungsführung auf, die folgendes umfaßt: wenigstens ein Strömungseinleitmittel mit zwei Enden, dessen erstes Ende in das Kulturgefäß ein-

40

taucht und dessen zweites Ende mit dem Eingang kommuniziert, und wenigstens ein Strömungsableitmittel mit zwei Enden, dessen erstes Ende in das Kulturgefäß eintaucht und dessen zweites Ende mit dem Ausgang kommuniziert. Vorteilhaft wird mit dieser Strömungsführung das zu beaufschlagende gasförmige Medium als gerichtete Strömung direkt zur Oberfläche der Kultur zwangsgeführt.

Bevorzugt ist das Mittel zum kontinuierlichen Erzeugen einer Druckdifferenz eine Pumpe, die mit ihrem saugseitigen Anschluß strömungstechnisch nach dem Kulturgefäß angeordnet ist. Zum vorteilhaften Einstellen der Strömungsgeschwindigkeit des Mediums oberhalb der Oberfläche der Zellkultur ist die Pumpe in ihrer Pumpleistung dabei besonders bevorzugt steuerbar.

Bevorzugt ist die Vorrichtung zum parallelen Beaufschlagen von in mehreren Kulturgefäßen aufgenommenen Kulturen mit dem gasförmigen Medium ausgestaltet, wobei die Strömungsführung hierfür eine entsprechende Anzahl an Strömungseinleit- und ableitmittel umfaßt, und jeweils ein aus einem Strömungseinleit- und einem Strömungsableitmittel bestehendes Paar genau einem Kulturgefäß zugeordnet ist. Somit ist es möglich, parallel mehrere Untersuchungen mit gleichen oder unterschiedlichen Kulturen durchzuführen, die jeweils alle die gleiche Zusammensetzung des (Prüf)-Mediums erhalten, um die Meßergebnisse statistisch aufzubessern bzw. ein entsprechendes Medium mittels mehrerer Kulturen gleichzeitig auf verschiedene Reaktionen hin zu untersuchen.

Dabei sind zum vorteilhaften weiteren Homogenisieren des gasförmigen Mediums vor Überströmen der einzelnen Kulturoberflächen die mehreren Strömungseinleitmittel alle über eine gemeinsame Verwirbelungskammer mit dem Eingang verbunden. Außerdem sind hierfür bevorzugt die mehreren Strömungsableitmittel alle über eine gemeinsame Ausgangskammer mit der Pumpe verbunden.

Zum Erzielen einer Strömung über im wesentlichen die gesamte Oberfläche einer Kultur entsprechen die Strömungsein-

leitmittel im Bereich ihres ersten Endes in ihrer Querschnittsform bevorzugt in etwa der Querschnittsform des zugehörigen Kulturgefäßes. Außerdem ist hierzu die Vorrichtung bevorzugt zum Beaufschlagen von Kulturgefäßen, die einen kreisförmigen Querschnitt aufweisen, mit einem gasförmigen Medium ausgelegt, wobei die Strömungseinleitmittel zumindest im Bereich ihres ersten Endes einen kreisförmigen Querschnitt haben, und der Außendurchmesser eines Strömungseinleitmittels etwas geringer als der Innendurchmesser des zugehörigen Kulturgefäßes in der Nähe der Oberfläche der im Kulturgefäß aufgenommenen Kultur ist.

Zum Erzielen einer definierten Strömung in unmittelbarer Nähe der (Zell)-Kulturoberfläche taucht das Strömungseinleitmittel bevorzugt in das zugehörige Kulturgefäß bis kurz oberhalb der Oberfläche der im jeweiligen Kulturgefäß aufgenommenen Kultur ein.

Bevorzugt ist die Vorrichtung zum Beaufschlagen von Kulturgefäßen, die einen sich zum Gefäßboden konisch verjüngenden Querschnitt aufweisen, mit einem gasförmigen Medium ausgelegt, wobei die Strömungsableitmittel derart ausgebildet sind, daß sie bezüglich der Gefäßhöhe des Kulturgefäßes lediglich eine kurze Strecke in das zugehörige Kulturgefäß eintauchen. Vorteilhaft wird hiermit eine besonders homogene Strömung im Bereich der Kulturoberfläche erzielt.

Als weitere bevorzugte Maßnahmen zum Verbessern des Strömungsprofils und/oder Vereinfachen des Gesamtaufbaus wird folgendes vorgesehen:

- das Strömungseinleitmittel ist als gerades Zylinderrohr ausgebildet, dessen zweites Ende eine bestimmte Strecke weit in die gemeinsame Verwirbelungskammer ragt,
- 35 - das Strömungsableitmittel ist als gerades Zylinderrohr ausgebildet, dessen zweites Ende in die gemeinsame Ausgangskammer mündet,
- der Zylinderaußendurchmesser des Strömungseinleitmittels ist etwas geringer als der Zylinderinnendurchmesser des Strömungsableitmittels und das Strömungsein-
- 40

leitmittel ist zentral innerhalb des Strömungsableitmittels geführt, und/oder

der Unterschied zwischen dem Zylinderaußen- und dem Zylinderinnendurchmesser zuzüglich der Zylinderwandstärke des Strömungsableitmittels entspricht in etwa dem Unterschied des Innendurchmessers des Kulturgefäßes in Höhe des ersten Endes des Strömungseinleitmittels und in Höhe des ersten Endes des Strömungsableitmittels.

Zum Erzielen einer möglichst kompakten Bauweise ist die Ausgangskammer bevorzugt zwischen der Verwirbelungskammer und den aufzunehmenden Kulturgefäßen angeordnet, wobei die Strömungseinleitmittel durch die Ausgangskammer geführt und von dieser strömungstechnisch isoliert sind.

Die Erfindung betrifft ferner eine Expositionsvorrichtung zum Versorgen einer in einem Kulturgefäß aufgenommenen Kultur mit einem flüssigen Medium, welche ferner eine erfindungsgemäße Vorrichtung zum Beaufschlagen einer in einem Kulturgefäß aufgenommenen Kultur mit einem gasförmigen Medium aufweist. Die Expositionsvorrichtung kann beispielsweise mobil für Untersuchungen umweltrelevanter Atmosphären sowohl im Innen- als auch im Außenraumbereich zur Bestimmung des gesundheitsgefährdenden Potentials an Zellen eingesetzt werden. Die Kulturen können dabei bei den Feldversuchen vorteilhaft über das flüssige Medium versorgt (d.h. ernährt) werden.

Bevorzugt umfaßt die Expositionsvorrichtung ferner folgendes: eine Kultureinheit, welche zur Aufnahme von wenigstens einem, insbesondere vier Kulturgefäß(en) dient, und eine Versorgungseinheit zum Versorgen der Kultur(en) in dem(dem) Kulturgefäß(en) mit dem flüssigen Medium aufweist, eine Aufnahmeeinrichtung zur Aufnahme der Kultureinheit, und eine Einrichtung zum automatischen Positionieren und Koppeln der Kultureinheit mit der Vorrichtung zum Beaufschlagen der Kultur mit einem gasförmigen Medium. Vorteilhaft ist hiermit eine besonders einfache Handhabung der Expositions-

richtung, insbesondere hinsichtlich des Austauschs von Kulturgefäßen, ermöglicht.

Bevorzugt weist die Kultureinheit ferner eine temperierbare Wanne zur Aufnahme der Kulturgefäße auf. Vorteilhaft können die Kulturen somit auch außerhalb des Labors auf Temperaturen gehalten werden, welche für das Überleben bzw. Wachstum der Kulturen notwendig sind.

10 Bevorzugt weist die Expositionsvorrichtung ferner eine federnd gehaltene Kontaktplatte auf, die in der Ankoppelposition der Kultureinheit in Kontakt mit den Gefäßrändern der Kulturgefäße gelangt und dabei federnd nachgibt. Vorteilhaft wird damit der Anpreßdruck der Kulturgefäße an die
15 Beaufschlagungsvorrichtung und damit auch die Dichtigkeit an dieser Stelle erhöht. Ganz besonders bevorzugt sind hierzu Dichtmittel in die Kontaktplatte eingelassen, und zwar wenigstens in den Bereichen der Kontaktplatte, die in der Ankoppelposition mit den Gefäßrändern der Kulturgefäße in
20 Kontakt kommen.

Die in der Expositionsvorrichtung in Kombination beanspruchten Merkmale können vorteilhaft auch unabhängig voneinander, insbesondere ohne die Vorrichtung zum Beaufschlagen einer in einem Kulturgefäß aufgenommenen Kultur mit einem gasförmigen Medium verwirklicht werden.

Die Erfindung sowie weitere Vorteile der Erfindung werden nachfolgend anhand eines bevorzugten Ausführungsbeispiels mit Bezug auf die beigefügte Zeichnung näher erläutert, in
30 der:

Figuren 1a, b jeweils zwei unterschiedliche Seitenansichten einer Expositionsvorrichtung gemäß dem bevorzugten Ausführungsbeispiel der Erfindung zeigen,
35

Figur 2 eine schematische Ansicht einer Vorrichtung zum Beaufschlagen einer in einem Kulturgefäß aufgenommenen Kultur mit einem gasförmigen
40

Medium gemäß dem bevorzugten Ausführungsbeispiel zeigt, mit der die prinzipielle Funktionsweise dieser Vorrichtung erläutert werden soll, und

5

Figur 3 eine detailliertere Ansicht der in Figur 2 gezeigten Vorrichtung ist.

Die (mobile) Expositionsvorrichtung weist ein Gestell 2 auf, das an einer Bodenplatte 4 befestigt ist. Die Bodenplatte 4 steht auf drei oder mehreren höhenverstellbaren Füßen 6 zum horizontalen Ausrichten einer Flüssigkeitsoberfläche einer in der Expositionsvorrichtung aufgenommenen Flüssigkeit (siehe unten) im Schwerfeld. An dem Gestell 2 ist eine in der Höhe verfahrbare Mittelplatte 8 zum Aufnehmen einer Kultureinheit 10 angeordnet. Die Mittelplatte 8 weist hierzu eine Art Schubladenfach auf, in das der kastenförmige Bodenabschnitt der Kultureinheit 10 eingeschoben und dort in seiner Lage festgelegt werden kann. Die Festlegung wird dabei über eine Feder/Nut-Führung 12 gewährleistet.

Die Kultureinheit 10 umfaßt in Höhe ihres Bodenabschnitts einen temperierbaren Metallblock 14, der eine wannenförmige Vertiefung zur Aufnahme einer Wanne 16 aufweist, und oberhalb ihres Bodenabschnitts einen Vorratsbehälter 18 (beispielsweise eine Mediumflasche) zum Aufnehmen eines flüssigen Mediums sowie eine Schlauchpumpe 20 zum Fördern des flüssigen Mediums zwischen der Wanne 16 und dem Vorratsbehälter 18.

30

Die Wanne 16 weist wiederum nicht dargestellte Aufnahmemittel für die Aufnahme von Kulturgefäßen 22 (z.B. Transwell-Inserts) auf, wobei die Kulturen in den Kulturgefäßen 22 aufgenommen werden. Beispielsweise kann an dieser Stelle die in dem deutschen Patent 198 01 763 offenbarte Kulturvorrichtung als Kulturgefäß 22 verwendet werden. Die Offenbarung dieses Patentes wird hiermit durch Bezugnahme vollinhaltlich in die vorliegende Anmeldung mitaufgenommen.

35

Diese Kulturgefäße 22 (Transwell-Inserts) haben beispielsweise eine becherartige Form mit kreisförmigen Querschnitt, wobei sich der Durchmesser von der Becheröffnung bis zum Becherboden konisch verjüngt. Der Becherboden besteht aus einem porösen Kunststoffmaterial, zum Beispiel aus Polyethylenterephthalat. Das Zellkulturinsert stellt eine flüssigkeitsdurchlässige Tragstruktur für eine Membran dar, die je nach Erfordernis der zu kultivierenden Zellen aus unterschiedlichen Kunststoffmaterialien hergestellt sein kann, z.B. ebenfalls Polyethylenterephthalat. Die Membran trägt dabei die Zellkultur.

Ferner umfaßt die Kultureinheit 10 wenigstens einen, vorzugsweise zwei oder auch mehrere nicht dargestellte Sensoren und eine zugehörige nicht dargestellte Steuer-/Regelungseinheit, welche die Kulturen in den Kulturgefäßen 22 pulsmäßig versorgt (pulsmäßige Steuerung der Zufuhr und Abfuhr von beispielsweise Nährflüssigkeit) und das Niveau des Mediums innerhalb der Kulturgefäße 22 regelt. Damit können beispielsweise die Kulturen innerhalb der Kulturgefäße 22 periodisch abwechselnd basal und submers ernährt werden, indem der Flüssigkeitspegel der Nährflüssigkeit entsprechend oberhalb oder unterhalb der Oberfläche der Kulturen eingestellt wird. Für weitere Details bezüglich der Pulssteuerung und Niveauregelung des flüssigen Mediums innerhalb der Kulturgefäße 22 wird ebenfalls auf die in der Anlage beigefügte Patentanmeldung verwiesen. Es sei bemerkt, daß der Unterschied zwischen der in der beigefügten Patentanmeldung beschriebenen Kulturvorrichtung und der hier beschriebenen entsprechenden Wanne 16 darin besteht, daß in der Wanne 16 die Kulturgefäße nicht mehr über Module mit jeweils drei Kulturgefäßen eingebracht sind, sondern direkt in der Wanne 16 hängen. Die Versorgung der Kulturgefäße 22 in der Wanne 16 mit Nährflüssigkeit erfolgt hierbei über den Deckel der Wanne 16, wobei die Flüssigkeit dann über den porösen Boden der Kulturgefäße 22 in diese eindringen kann. Auch die nicht dargestellten Sensoren sind

nun nicht mehr pro Modul vorgesehen, sondern können an der Seitenwand der Wanne 16 angebracht sein, und zwar in der Höhe verstellbar, so daß sie verschiedene Flüssigkeitspegel innerhalb der Wanne 16 detektieren können. Hierzu kann eine beliebige Anzahl an (höhenverstellbaren) Sensoren vorgesehen sein, die alle in unterschiedlicher Höhe an der Seitenwand der Wanne 16 angebracht sind. Damit kann beispielsweise der Flüssigkeitspegel innerhalb der Wanne 16 so gesteuert werden, daß simultan einige Kulturen submers, andere hingegen noch basal ernährt werden (sofern die Kulturgefäße 22 unterschiedliche Eintauchtiefen in die Wanne 16 aufweisen). Alternativ kann selbstverständlich auch die in der beigefügten Patentanmeldung beschriebene Kulturvorrichtung unverändert übernommen werden.

Es können ferner (nicht dargestellte) Temperatursensoren an oder innerhalb der Wanne 16 vorgesehen sein, und zwar für eine Temperaturregelung der Flüssigkeit innerhalb der Wanne 16.

Insgesamt integriert die Kultureinheit 10 also sämtliche Elemente zur optimalen Versorgung der Kulturen (Zellen, etc.) während der Expositionsphase in dem temperierbaren Metallblock 14. Die Mittelplatte 8 wird dabei nach Bestückung mit den zu untersuchenden Kulturen in den Kulturgefäßen 22 mittels eines Getriebemotors 24 und einer Gewindespindel 26 zu einer Beaufschlagungsvorrichtung 28 hochgefahren. Die Beaufschlagungsvorrichtung 28 ist samt ihrer zugehörigen Vakuumpumpe 30 auf einer Deckelplatte 32 montiert.

Nachfolgend wird die Beaufschlagungsvorrichtung 28 mit Bezug auf die Figuren 2 und 3 im Detail beschrieben. Die Beaufschlagungsvorrichtung 28 setzt sich im wesentlichen aus einer oberen Verwirbelungskammer 34, einer darunter angeordneten und lediglich durch eine Trennwand 36 voneinander getrennte Ausgangskammer 38 (beide Kammern 34 und 38 bilden also ein Zweikammersystem), mehreren Strömungseinleitrohren 40 mit jeweils einem ersten Ende 41a und einem zweiten Ende 41b, mehreren Strömungsableitrohren 42 mit jeweils einem ersten

43a und einem zweiten Ende 43b, einer Ansaugöffnung 44 und der Vakuumpumpe 30 zusammen. Die Ansaugöffnung 44 (die beispielsweise als Ansaugstutzen mit einer bestimmten Höhe ausgebildet sein kann, um die Außenatmosphäre deutlich oberhalb der Luftschicht anzusaugen, die ggf. durch Abdampfungsphänomene unerwünschter Stoffen von der gesamten Expositionsvorrichtung verunreinigt ist und das Meßergebnis verfälschen würde), über die das zu beaufschlagende Medium eingesaugt wird, ist an der Oberseite der Verwirbelungskammer 34 angeordnet. Das zu beaufschlagende Medium kann entweder von einer weiteren nicht dargestellten Vorratsflasche oder einer Erzeugungseinheit zum Erzeugen des Mediums (Dieselmotor, Benzinmotor, Reaktionsbehälter, in dem das zu beaufschlagende Medium erst aus einem oder mehreren Ausgangsprodukten erzeugt wird, etc.) stammen, sofern ein in seiner Zusammensetzung bekanntes gasförmiges Medium zu den Zellkulturen eingeleitet werden soll, oder bei Anwendung der Expositionsvorrichtung in einem Feldversuch aus der Außenatmosphäre. Somit können beispielsweise die Auswirkungen verschiedener natürlich vorkommender Atmosphären auf das Wachstum oder generell das Verhalten von Zellkulturen (beispielsweise Lungenzellen, etc.) untersucht werden.

Die Strömungseinleitrohre 40 sind als gerade Zylinderrohre (z.B. als Metallhülse) mit einem kreisförmigen Querschnitt ausgebildet, der über ihre gesamte Länge gleich ist. Die Strömungseinleitrohre 40 ragen mit ihrem zweiten Ende 41b ein Stück weit von der Unterseite der Verwirbelungskammer 34, d.h. von der Trennwand 36, in den Innenraum der Verwirbelungskammer 34, durchdringen die Ausgangskammer 38 von deren Oberseite, d.h. der Trennwand 36, bis zu deren Unterseite 46 und ragen anschließend mit ihrem ersten Ende 41a ein Stück weit über die Unterseite 46 hinaus ins Freie (bei nicht aufgesetztem Kulturgefäß 22). Wie aus Figur 3 deutlich sichtbar wird, sind die Strömungseinleitrohre 40 gegenüber der Ausgangskammer 38 über Dichtringe 48 luftdicht abgedichtet und mittels geeigneter Befestigungsmittel 50 sowohl gegen laterales als auch axiales Verschieben festgelegt. Alternativ können die Strömungsableitrohre 42 in einem nicht dargestellten Ausführungsbeispiel auch als mehrere

re separate, um den Außenumfang jeweils eines Strömungseinleitrohres 40 angeordnete Röhrchen mit kleinem Durchmesser ausgebildet sein.

- 5 Die Strömungsableitrohre 42 sind ebenfalls wie die Strömungseinleitrohre 40 als gerade Zylinderrohre (z.B. als Metallhülse) mit einem kreisförmigen Querschnitt ausgebildet, der über ihre gesamte Länge gleich ist. Ihr Durchmesser ist jedoch etwas größer dimensioniert als der Durchmesser der
- 10 Strömungseinleitrohre 40. Dabei verlaufen die Strömungseinleitrohre 40 zentral innerhalb der Strömungsableitrohre 42 und ragen an der Unterseite 46 der Ausgangskammer ein Stück weit aus den Strömungsableitrohren 42 heraus. Diese herausragende Länge ist so bemessen, daß bei einem konisch sich
- 15 zum Boden verjüngenden Kulturgefäß 22 die Strömungseinleitrohre 40 bis knapp oberhalb der Oberfläche der sich darin befindlichen Zellkultur 23 reichen, die Strömungsableitrohre 42 hingegen lediglich ein kurzes Stück von oben in das Kulturgefäß 22 ragen. Dabei ist der Außendurchmesser
- 20 der Strömungseinleitrohre 40 so bemessen, daß er etwas geringer als der Innendurchmesser des Kulturgefäßes 22 in Nähe der Oberfläche der Zellkultur 23 ist. Insgesamt bildet sich bei aufgesetztem Kulturgefäß 22 somit ein ringförmiger Spalt am ersten Ende 40a bzw. der unteren Mündung der Strömungseinleitrohre 40 zwischen deren Außenwand und der Innenwand des Kulturgefäßes 22, durch welchen das gasförmige Medium strömen kann. Dieser ringförmige Spalt kann auch auf
- 25 andere Weise als über die beschriebene Art mit den beiden ineinander geschobenen Zylinderrohren 40 und 42 erzielt werden. Der Strömungsverlauf durch die Beaufschlagungsvorrichtung 28 ist mit den einzelnen Pfeile in Figur 2 angedeutet.

- Insgesamt strömt das gasförmige Medium aufgrund der Druckdifferenz zwischen dem Ansaugstutzen 44 und dem Ausgang 39, welche durch die am Ausgang 39 der Ausgangskammer 38 angeschlossene Vakuumpumpe 30 erzeugt wird, also durch den Ansaugstutzen 44, wird in der Verwirbelungskammer 34 so verwirbelt, daß das gasförmige Medium möglichst homogen durch
- 40 alle Strömungseinleitrohre 40 einströmen kann, von dort ge-

langt es auf die Oberfläche der Zellkulturen 23 in den einzelnen Kulturgefäßen 22, strömt dort kontinuierlich über die im wesentlichen die gesamte Zellkulturoberfläche und entlang der Gefäßinnenwände der Kulturgefäße 22 nach oben zu dem ringförmigen Eingangsspalt zwischen Strömungseinleit-
5 40 und -ableitrohr 42, durch das Strömungsableitrohr 42 in die Ausgangskammer 38 und von dort über den Ausgang 39, die Vakuumpumpe 30 und den Pumpenausgang 31 ins Freie.

10 In der in Figur 1 gezeigten Expositionsvorrichtung befindet sich an der Unterseite 46 der Ausgangskammer 38 eine gefederte Kontaktplatte 52, welche bei Höchfahren der Mittelplatte mit der Kultureinheit 10 bei Kontakt nach oben federnd nachgibt und somit einen gewissen Anpreßdruck des Außenrandes der Kulturgefäße 22 gegen eine in der Kontakt-
15 platte 52 eingelassene Silikonmatte 53 herstellt. Die Silikonichtung kann alternativ (nicht dargestellt) auch nur ringförmig um die Strömungsableitrohre 42 herum in die Kontaktplatte 52 eingelassen sein. Dies sorgt für einen luftdichten Abschluß des Innenraums der Kulturgefäße 22 gegenüber dem Außenraum. Damit wird gewährleistet, daß jede Zellkultur 23 im Prinzip einer identischen Zusammensetzung der Atmosphäre ausgesetzt ist, da alle Zellkulturen 23 die durch eine einzige Ansaugöffnung 44 angesaugte Atmosphäre
20 erhalten, die anschließend noch in der Verwirbelungskammer 34 derart homogenisiert wird, daß etwaige Konzentrationsunterschiede über den Einströmquerschnitt gesehen nochmals ausgeglichen werden.

30 Die Beaufschlagungsvorrichtung 28 ist dabei entweder über Federmittel 54 auf der Kontaktplatte 52 aufgesetzt (wobei die Kontaktplatte 52 direkt mit der Deckelplatte 32 gekoppelt ist). Hiermit wird gewährleistet, daß bei Einrücken der Federmittel 54 die ersten Enden 41a und 43a der Strömungseinleit-
35 mungseinleit- 40 bzw. -ableitrohre 42 unabhängig von der Einrücktiefe der Federmittel 54 immer gleich weit in die Kulturgefäße 22 eintauchen. Andererseits können die Kontaktplatte 52 über die Federmittel 54 und die Beaufschlagungsvorrichtung 28 direkt mit der Deckelplatte 32 gekoppelt sein. Damit variiert aber je nach Einrücktiefe des Fe-

dermittels 54 beim Anpressen der Kultureinheit 10 an die Kontaktplatte 52 auch die Eintauchtiefe der Strömungseinleit- 40 bzw. ableitrohre 42 in die Kulturgefäße 22.

- 5 Die Pumpleistung der Vakuumpumpe 30 ist wähl- und steuerbar, so daß insbesondere die Strömungsgeschwindigkeit oberhalb der Kultur 23 verändert werden kann. So kann beispielsweise durch Erhöhen der Strömungsgeschwindigkeit die Konzentration von in der Atmosphäre enthaltenen Schadstoffen künstlich erhöht werden, da bei erhöhter Strömungsgeschwindigkeit pro Zeiteinheit eine größere Menge dieser Schadstoffe an der Oberfläche vorliegt. Dies kann in Fällen vorteilhaft sein, in denen die Zellen grundsätzlich eine höhere Aufnahmerate für diesen Schadstoff haben (d.h. bei höheren Konzentrationen auch mehr Schadstoffe pro Zeiteinheit aufnehmen können) und somit entweder in kürzerer Zeit eine Messung durchgeführt werden kann oder eine Meßreihe zu künstlich eingestellten unterschiedlichen Konzentrationen aufgenommen werden kann. Auch können bei einem Versuch zum Ermitteln des Regenerationsverhalten von Zellen, Beaufschlagungspausen durch Stoppen der Vakuumpumpe 30 eingelegt werden. Diese Pausen können auch mit Zeitperioden submerser Versorgung mit dem flüssigen Medium über die Schlauchpumpe 20 zusammenfallen.

25

Patentansprüche:

1. Vorrichtung zum Beaufschlagen einer in einem Kulturge-
5 fäß (22) aufgenommenen Kultur (23) mit einem gasförmigen Medium, dadurch gekennzeichnet, daß sie zum Erzeugen einer gezielten Strömung des gasförmigen Mediums über im wesentlichen die gesamte Oberfläche der Kultur (23) ausgestaltet ist.
- 10 2. Vorrichtung nach Anspruch 1, mit:
 - einem Eingang (44) zum Einleiten des gasförmigen Mediums,
 - einem Ausgang (31) zum Ableiten des gasförmigen
15 Mediums, wobei die Kultur (23) in dem Kulturgefäß (22) strömungstechnisch gesehen zwischen dem Eingang (44) und dem Ausgang (31) angeordnet ist, und
 - einem Mittel (30) zum kontinuierlichen Erzeugen
20 einer Druckdifferenz zwischen dem Eingang (44) und dem Ausgang (31).
3. Vorrichtung nach Anspruch 2 mit einer Strömungsführung (40, 42), die folgendes umfaßt:
 - 25 - wenigstens ein Strömungseinleitmittel (40) mit zwei Enden (41a, b), dessen erstes Ende (41a) in das Kulturgefäß (22) eintaucht und dessen zweites Ende (41b) mit dem Eingang (44) kommuniziert, und
 - wenigstens ein Strömungsableitmittel (42) mit
30 zwei Enden (43a, b), dessen erstes Ende (43a) in das Kulturgefäß (22) eintaucht und dessen zweites Ende (43b) mit dem Ausgang (31) kommuniziert.
4. Vorrichtung nach Anspruch 2 oder 3, bei welcher das
35 Mittel zum kontinuierlichen Erzeugen einer Druckdifferenz eine Pumpe (30) ist, die mit ihrem saugseitigen Anschluß strömungstechnisch nach dem Kulturgefäß (22) angeordnet ist.

5. Vorrichtung nach Anspruch 3 oder 4, welche zum parallelen Beaufschlagen von in mehreren Kulturgefäßen (22) aufgenommenen Kulturen (23) mit dem gasförmigen Medium ausgestaltet ist, wobei die Strömungsführung (40, 42) hierfür eine entsprechende Anzahl an Strömungseinleit- (40) und ableitmittel (42) umfaßt, und jeweils ein aus einem Strömungseinleit- (40) und einem Strömungsableitmittel (42) bestehendes Paar genau einem Kulturgefäß (22) zugeordnet ist.
6. Vorrichtung nach Anspruch 5, bei welcher die mehreren Strömungseinleitmittel (40) alle über eine gemeinsame Verwirbelungskammer (34) mit dem Eingang (44) verbunden sind.
7. Vorrichtung nach Anspruch 5 oder 6, bei welcher die mehreren Strömungsableitmittel (42) alle über eine gemeinsame Ausgangskammer (38) mit der Pumpe (30) verbunden sind.
8. Vorrichtung nach einem Ansprüche 3 bis 7, bei welcher die Strömungseinleitmittel (40) im Bereich ihres ersten Endes (41a) in ihrer Querschnittsform in etwa der Querschnittsform des zugehörigen Kulturgefäßes (22) entsprechen.
9. Vorrichtung nach Anspruch 8, welche zum Beaufschlagen von Kulturgefäßen (22), die einen kreisförmigen Querschnitt aufweisen, mit einem gasförmigen Medium ausgelegt ist und bei welcher die Strömungseinleitmittel (40) zumindest im Bereich ihres ersten Endes (41a) einen kreisförmigen Querschnitt haben, wobei der Außendurchmesser eines Strömungseinleitmittels (40) etwas geringer als der Innendurchmesser des zugehörigen Kulturgefäßes (22) in der Nähe der Oberfläche der im Kulturgefäß (22) aufgenommenen Kultur ist (23).
10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 3 bis 9, bei welcher das Strömungseinleitmittel (40) mit seinem ersten Ende (41a) in das zugehörige Kulturgefäß (22) bis kurz

oberhalb der Oberfläche der im jeweiligen Kulturgefäß (22) aufgenommenen Kultur (23) eintaucht.

- 5 11. Vorrichtung nach Anspruch 10 oder 11, welche zum Be-
aufschlagen von Kulturgefäßen (22), die einen sich zum
Gefäßboden konisch verjüngenden Querschnitt aufweisen,
mit einem gasförmigen Medium ausgelegt ist, und die
Strömungsableitmittel (42) derart ausgebildet sind,
10 daß sie mit ihrem ersten Ende (43a) bezüglich der Ge-
fäßhöhe des Kulturgefäßes (22) lediglich eine kurze
Strecke in das zugehörige Kulturgefäß (22) eintauchen.
12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 6 bis 11, bei
15 welcher das Strömungseinleitmittel (40) als gerades
Zylinderrohr ausgebildet ist, dessen zweites Ende
(41b) eine bestimmte Strecke weit in die gemeinsame
Verwirbelungskammer (34) ragt.
13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 7 bis 12, bei
20 welcher das Strömungsableitmittel (42) als gerades Zy-
linderrohr ausgebildet ist, dessen zweites Ende (43b)
in die gemeinsame Ausgangskammer (38) mündet.
14. Vorrichtung nach Anspruch 13, bei welcher der Zylind-
25 deraußendurchmesser des Strömungseinleitmittels (40)
etwas geringer als der Zylinderinnendurchmesser des
Strömungsableitmittels (42) ist und das Strömungsein-
leitmittel (40) zentral innerhalb des Strömungsableit-
mittel (42) geführt ist.
- 30 15. Vorrichtung nach Anspruch 14, bei welcher der Unter-
schied zwischen dem Zylinderaußen- und dem Zylinderin-
nendurchmesser zuzüglich der Zylinderwandstärke des
Strömungsableitmittels (42) in etwa dem Unterschied
35 des Innendurchmessers des Kulturgefäßes (22) in Höhe
des ersten Endes (41a) des Strömungseinleitmittels
(40) und in Höhe des ersten Endes (43a) des Strömungs-
ableitmittels (42) entspricht.

16. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 7 bis 15, bei welcher die Ausgangskammer (38) zwischen der Verwirbelungskammer (34) und den aufzunehmenden Kulturgefäßen (22) angeordnet ist, wobei die Strömungseinleitmittel (40) durch die Ausgangskammer (38) geführt und gegenüber dieser luftdicht isoliert sind.
17. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 2 bis 16, bei welcher die Pumpe (30) in der Pumpleistung steuerbar ist.
18. Verfahren zum Beaufschlagen einer in einem Kulturgefaß (22) aufgenommenen Kultur (23) mit einem gasförmigen Medium, dadurch gekennzeichnet, daß eine gezielte Strömung des gasförmigen Mediums über im wesentlichen die gesamte Oberfläche der Kultur (23) erzeugt wird.
19. Verfahren nach Anspruch 18, bei welchem das gasförmige Medium über einen Eingang (44) angesaugt und mittels einer Strömungsführung (40, 42) zur Oberfläche der Kultur (23) und von dieser zu einem Ausgang (31) geführt wird.
20. Verfahren nach Anspruch 18 oder 19, bei welchem das gasförmige Medium zwischen dem Eingang (44) und der Strömungsführung (40, 42) zwecks Homogenisierung verwirbelt wird.
21. Expositionsvorrichtung zum Versorgen einer in einem Kulturgefaß (22) aufgenommenen Kultur (23) mit einem flüssigen Medium, welche ferner eine Vorrichtung (28) nach einem der Ansprüche 1 bis 17 aufweist.
22. Expositionsvorrichtung nach Anspruch 21, welche ferner folgendes umfaßt:
- eine Kultureinheit (10), welche zur Aufnahme von wenigstens einem Kulturgefaß (22) dient, und eine Versorgungseinheit (18, 20) zum Versorgen der Kultur (23) im Kulturgefaß (22) mit dem flüssigen Medium aufweist,

- eine Aufnahmeeinrichtung (8, 12) zur Aufnahme der Kultureinheit (10), und
 - eine Einrichtung (24, 26) zum automatischen Positionieren und Ankoppeln der Kultureinheit (10) an die Vorrichtung (28) zum Beaufschlagen der Kultur (23) mit einem gasförmigen Medium.
- 5
23. Expositionsvorrichtung nach Anspruch 22, bei welcher die Kultureinheit (10) ferner eine temperierbare Wanne (14, 16) zur Aufnahme der Kulturgefäße (22) aufweist.
- 10
24. Expositionsvorrichtung nach Anspruch 22 oder 23, welche ferner eine federnd gehaltene Kontaktplatte (52) aufweist, die in der Ankoppelposition der Kultureinheit (10) in Kontakt mit den Gefäßrändern der Kulturgefäße (22) gelangt und dabei federnd nachgibt.
- 15
25. Expositionsvorrichtung nach Anspruch 24, bei welcher Dichtmittel (53) an die Kontaktplatte vorgesehen, und zwar wenigstens in den Bereichen, die in der Ankoppelposition mit den Gefäßrändern der Kulturgefäße (22) in Kontakt kommen.
- 20

Fig. 1a

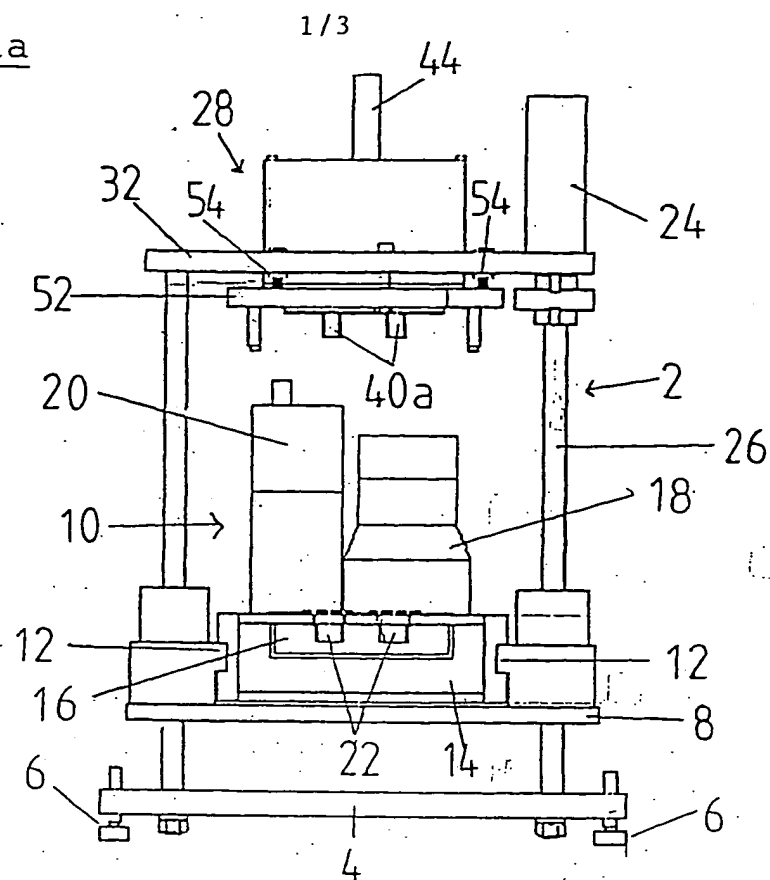
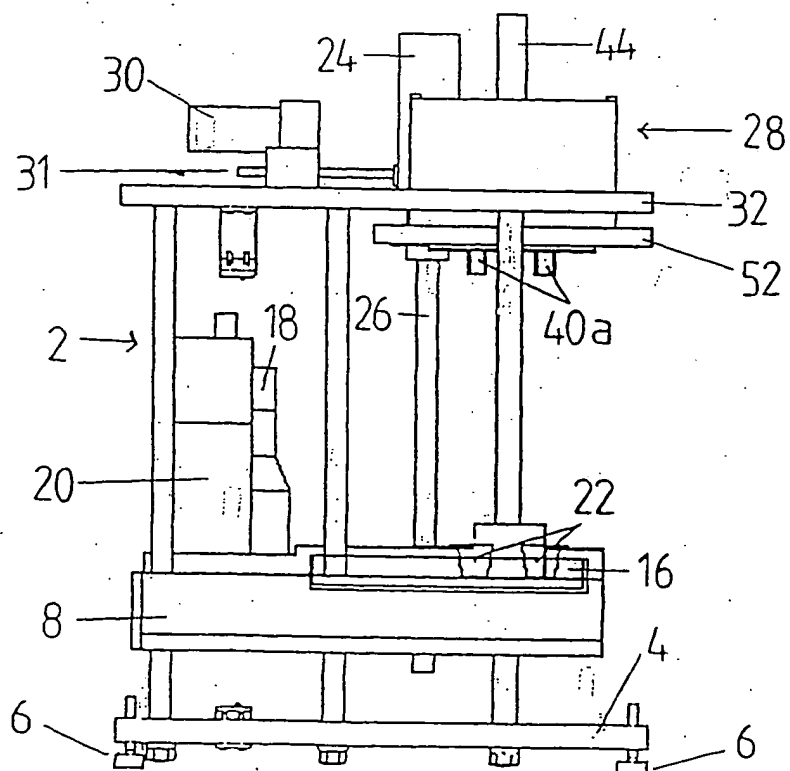


Fig. 1b



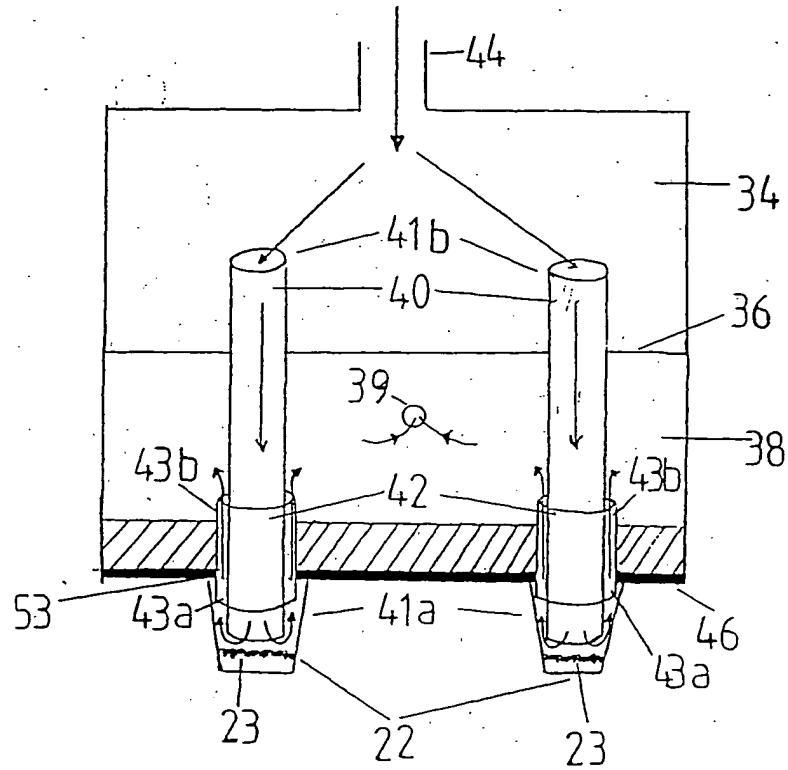


Fig. 2

3/3

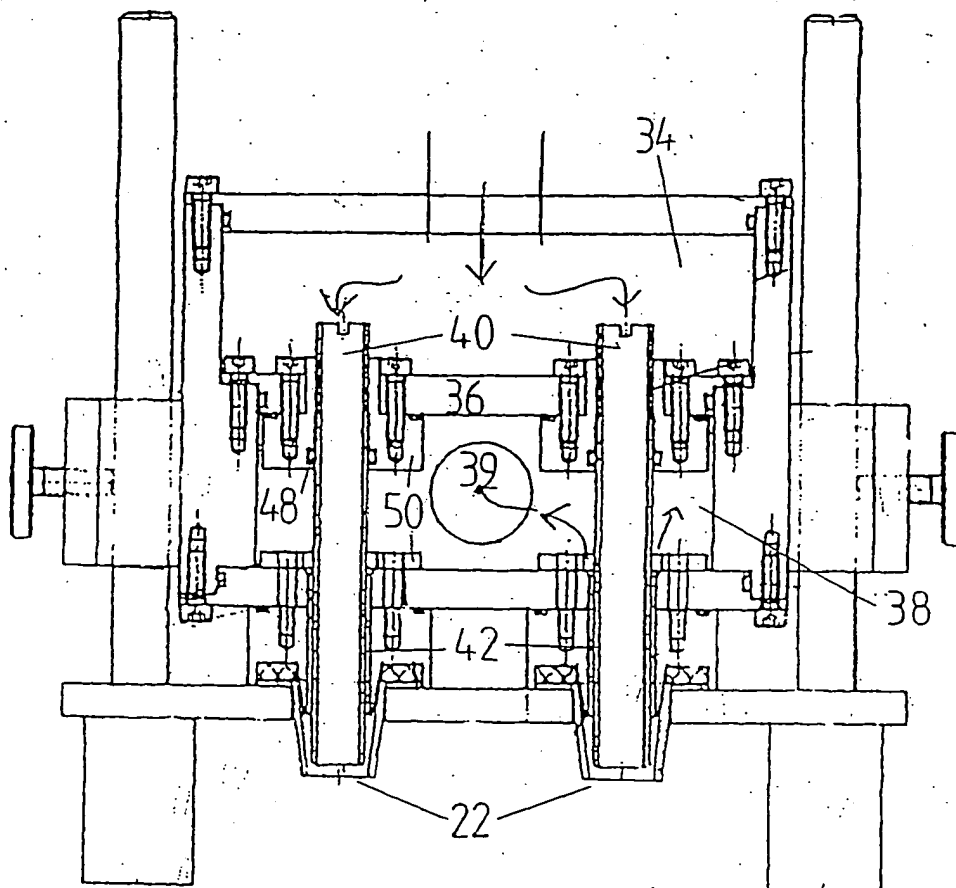


Fig. 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Application No
PCT/EP 01/03268A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12M1/14 C12M1/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C12M

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 400 415 A (DIGITAL DIAGNOSTIC CORP) 5 December 1990 (1990-12-05) column 3, line 30 -column 6, line 41; claims 1-4; figures 1,2	1
A	US 5 976 871 A (DORN DANIEL ET AL) 2 November 1999 (1999-11-02)	

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 July 2001

Date of mailing of the international search report

03/08/2001

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Coucke, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Internat. Applic. No.

PCT/EP 01/03268

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP 0400415	A	05-12-1990	US	5087820 A	11-02-1992
US 5976871	A	02-11-1999	US	5851790 A	22-12-1998

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

PCT/EP 01/03268

A. KLASSTIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 C12M1/14 C12M1/04		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 C12M		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, WPI Data, PAJ		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beitr. Anspruch Nr.
X	EP 0 400 415 A (DIGITAL DIAGNOSTIC CORP) 5. Dezember 1990 (1990-12-05) Spalte 3, Zeile 30 - Spalte 6, Zeile 41; Ansprüche 1-4; Abbildungen 1,2	1
A	US 5 976 871 A (DORN DANIEL ET AL) 2. November 1999 (1999-11-02)	
<input type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
<p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :</p> <p>*A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>*E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>*L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>*O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>*P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>*T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>*X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>*Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>*Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 27. Juli 2001		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts 03/08/2001
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl. Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Coucke, A

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.